

# CBF 转录因子及其在植物抗寒性中的作用

卢艳敏, 苏长青, 刘海鹏  
(衡水学院生命科学系, 河北衡水 053000)

**摘要:** CBF 转录因子在抗寒性方面起重要作用, 低温可诱导 CBF 转录因子的表达。CBF 转录因子能够特异结合启动子中的 CRT/ DRE 元件, 激活 COR 等基因的表达, 从而增强植株抗寒能力。目前已有许多成功将 CBF 基因导入植株的报道, 为植物抗寒育种提供了一条新途径。  
**关键词:** CBF 转录因子; CRT/ DRE 元件; 抗寒性  
**中图分类号:** S94      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1002-2767(2009)05-0007-03

## Role of the Transcription Factor CBF in Plant Cold Resistance

LU Yan-min, SU Chang-qing, LIU Hai-peng  
(Life Science Department of Hengshui University, Hengshui, Hebei 053000)

**Abstract:** CBF transcription factor played an important role in the process of cold resistance. Low temperature could induce the expression of CBF transcription factor, which specifically bound to the promoters containing CRT/ DRE cis-acting elements, and then activated the expression of COR gene. As a result the resistance to cold was enhanced. At present, there were so many reports on the success introduction of CBF gene into plants, and it would provide a new method to the stress resistance breeding of plant.  
**Key words:** CBF transcription factor; CRT/ DRE element; cold resistance

CBF (CRT/DRE Binding Factor) 转录因子是一类受低温诱导的, 最初在拟南芥中发现的反式作用因子, 它可以与 CRT/DRE 顺式作用元件特异性结合, 激活启动子中具有这一调控元件的冷诱导和脱水诱导基因的表达, 从而提高植物的抗逆性。CBF 转录因子的发现为植物的抗寒性研究提供了新的思路。近年来通过

导入 CBF 基因来改良作物的抗寒性, 已经在油菜、烟草、番茄和小麦等作物上获得了成功。

### 1 CBF 转录因子的发现

1997 年 Stockinger 在研究拟南芥低温驯化期间如何调节 COR 基因表达的分子机理时, 利用酵母单杂交的方法, 从拟南芥 cDNA 文库中克隆出一段 cDNA 序列, 其编码一种转录因子, 编码产物能识别 COR 基因启动子区的 CRT/DRE 元件并与之结合, 命名为 CBF1 (CRT/DRE binding factor 1)<sup>[1]</sup>。1998 年 Gilmour 等又从冷处理后的拟南芥 cDNA 文库中鉴定出 CBF2 和

收稿日期: 2009-01-20  
基金项目: 衡水学院 2006 年院级课题(2006017)  
第一作者简介: 卢艳敏(1977-), 女, 硕士, 讲师, 从事分子生物学研究。E-mail: luyanmin\_2001@sina.com。

### 参考文献:

[ 1 ] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程原理与技术[ M ]. 北京: 科学出版社, 1998: 228-229.

[ 2 ] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors DREB1 and DREB2 with an EREBP/AP2 DNA-binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought and low-temperature-responsive gene expression in Arabidopsis[ J ]. Plant Cell, 1998, 10: 1391-1406.

[ 3 ] 刘强, 赵南明, Yamaguchi-Shinozaki K, 等. DREB 转录因子在提高植物抗逆性中的作用[ J ]. 科学通报, 2000, 45(1): 11-15.

[ 4 ] 黄荣峰, 杨宇红, 王学臣. 植物对低温胁迫响应的分子机理[ J ]. 农业生物技术学报, 2001, 9(1): 92-96.

[ 5 ] 张正斌, 山仑. 转抗旱基因作物的研究进展[ J ]. 世界科技研究与发展, 1999, 21(2): 31-33.

[ 6 ] 朱其杰, 许勇, 宋腾飞. 黄花的组织培养与植株再生[ J ]. 北京农业大学学报, 1990, 16(2): 142.

[ 7 ] 朝军良, 马蓉丽, 李吕华. 黄瓜子叶组织培养再生植株[ J ]. 山西农业科学, 1996, 24(10): 39-41.

[ 8 ] 赵秀娟, 吴定华. 黄花的组织培养[ J ]. 华南农业大学学报, 1998, 19(4): 125-126.

[ 9 ] 周菊花, 马月珍, 罗紫娟, 等. 离体黄瓜子叶直接开花的研究[ J ]. 科学通报, 1992, 20: 1905-1908.

[ 10 ] 李晓丹, 司龙亭, 刘志勇, 等. 黄瓜子组织培养中外植体的选择及播种方式[ J ]. 蔬菜, 2004(7): 30-31.

[ 11 ] 佟新萍. 黄瓜子叶下胚轴愈伤组织诱导及植株再生试验[ J ]. 石河子科技, 1996(4): 11-12.

[ 12 ] 侯爱菊, 朱延明, 杨爱馥. 高频率诱导黄瓜子直接器官发生主要影响因素的研究[ J ]. 园艺学报, 2003, 30(1): 101-103.

*CBF3*<sup>[2]</sup>。由于 *CBF1*~*3* 基因除了具有抗寒作用外还具有抗旱能力,所以它们又分别称为 *DREB1b*、*DREB1c*、*DREB1d*<sup>[3]</sup>,2002 年 *Hacke* 在研究拟南芥抗旱时克隆了 *CBF4*<sup>[4]</sup>。拟南芥基因组测序完成后,又克隆了 *CBF5*、*CBF6*<sup>[5]</sup>。

除了模式植物拟南芥之外,还在油菜、小麦、黑麦、大麦、玉米、水稻、高羊茅、黑麦草等植株中分离到类似 *CBF* 基因。

## 2 *CBF* 基因的特点

*CBF* 转录激活因子属于 AP2/EREBP 类转录因子,它是植物所特有的一类转录因子。其一级结构中含有 AP2DNA 结合域、碱性核定位信号区和酸性转录激活域。AP2/EREBP 结合域是一个由大约 60 个氨基酸残基组成的非常保守的 DNA 结合区,而且在其 N-端部分存在一个碱性亲水区,含有 3 个反平行的  $\beta$ -折叠,这 3 个  $\beta$ -折叠在识别顺式作用元件中具有重要作用。

研究表明 *CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 聚集在拟南芥 4 号染色体的短臂上,与分子标记 m600、PG11 紧密连锁。而 *CBF4* 定位在 5 号染色体上。序列分析表明, *CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 基因的核酸序列具有较高的同源性, *CBF1* 与 *CBF2*、*CBF3* 的同源性分别为 81% 和 84%, *CBF2* 和 *CBF3* 之间同源性为 84%。*CBF* 转录激活因子之间氨基酸序列的同源性均在 85% 以上。*CBF4* 蛋白与其他 3 种 *CBF* 蛋白相比,有 63% 的氨基酸相同。

*CBF1*、*CBF2*、*CBF3* 基因受低温诱导而不依赖于 ABA, *CBF4* 基因能被干旱和 ABA 所诱导,但不被低温诱导<sup>[9]</sup>。

## 3 *CBF* 转录因子对 *COR* (cold-regulated gene) 基因的表达调控

*COR* 基因是冷诱导基因,在它的启动子中含有 CRT/DRE 元件, CRT/DRE 是一段 DNA 顺式作用元件,核心序列为 CCGAC。*Jaglo-ottosen* 等在拟南芥中发现, *COR* 基因包括 *COR6.6*、*COR15a*、*COR47* 及 *COR78* 四种<sup>[7]</sup>。进一步研究发现,这 4 个 *COR* 基因分散分布在拟南芥基因组中,它们既不与 *CBF* 基因连锁,各自之间也不相互连锁。

当植物处于低温时, *CBF* 基因表达, AP2 基序与 CRT/DRE 元件结合,从而激活 *COR* 基因表达,提高了植物的抗寒能力。

## 4 *CBF* 转录因子的表达

*CBF* 基因的表达为低温特异诱导而不受 ABA 和脱水胁迫的调控。在正常生长温度下,植物体内的 *CBF* 基因不表达,几乎检测不到其转录物的存在。将拟南芥植株转移到低温环境中,3 个 *CBF* 基因的转录

在 15 min 内明显提高,在接下去的 1~2 h 继续提高,2 h 后开始下降,但在 24 h 内仍然保持着比正常温度下生长的植株中要高的水平。与拟南芥中的情况一样,油菜、小麦、黑麦和番茄中类似 *CBF* 基因的转录也在经受低温胁迫后 15~30 min 内快速提高,几小时内达到最高,随后开始下降<sup>[8]</sup>。

*CBF* 基因由于低温诱导的机制还不是很清楚, *Gilmour* 等提出一种模型:正常温度下,植物体内存在一种转录因子,该转录因子能够识别 *CBF* 启动子,并在低温下被激活。他们将此推测的转录因子命名为 ICE (inducer of *CBF* expression, ICE)<sup>[9]</sup>。*Chinnusamy* 等已经从拟南芥中得到 ICE1 基因序列,将其连上 CaMV35S 启动子转入拟南芥,获得了含 ICE1 的转基因拟南芥植株,通过低温检测证实转基因拟南芥植株的抗冷性有很大的提高。同时还发现, ICE1 基因突变后,在低温诱导条件下 *CBF3* 的转录水平有明显的降低,而对其它 *CBF* 基因的转录水平影响很小,由此推测 ICE1 是一种上游调节蛋白,能有效控制 *CBF3* 的转录,但 ICE1 对 *CBF1* 和 *CBF2* 的表达作用不大。这说明,在 *CBF* 基因家族中存在着表达机制上的差异,而这差异主要存在于 *CBF* 基因家族的启动子中<sup>[10]</sup>。

ICE 是在低温时诱导 *CBF* 基因家族表达的转录激活因子,它是一个上游调控因子。ICE 能够识别 *CBF* 基因启动子中的冷调控元件 (ICE 盒)。在常温下, ICE 没有活性,当植物经低温处理后, ICE 被激活,与 *CBF* 基因启动子中的 ICE 盒相结合,诱导 *CBF* 基因的表达<sup>[11]</sup>。

*Novillo* 等发现 *CBF2* 突变体在低温下 *CBF1* 和 *CBF3* 的表达量增加,比野生型植株更能耐受低温,表明 *CBF2* 对 *CBF1* 与 *CBF3* 的表达有负调控的作用<sup>[12]</sup>。

除 ICE 外, HOS1 是另一个重要的上游调控因子,在拟南芥中为组成型表达。HOS1 基因编码一种含有环指状基序的蛋白,常温时它定位于细胞质中,但在低温胁迫下转移到核内,调控 *CBF* 基因的表达。它的突变导致低温反应中 *CBF* 基因以及它们的下游 *COR* 基因的表达增强<sup>[13-14]</sup>。

## 5 *CBF* 转录因子在提高植物抗寒性的作用

拟南芥转基因植株中 *CBF* 转录激活因子的超表达导致许多生理生化变化,包括编码产生 LEA 蛋白或亲水多肽,脯氨酸和多种可溶性糖类的合成积累,这些物质已被证明对植物的低温耐性起重要作用,并且植物体内的这些变化在冷驯化过程中普遍发生。由此认为 *CBF* 转录因子是冷驯化反应途径中的“总开关”。*CBF* 转录因子与 CRT/DRE 调控元件特异结合,诱导启动

子中具有这一调控元件的基因的表达, 促进这几类物质的合成与积累, 从而提高植物的抗寒性。超表达 CBF 转录激活因子除了能增加植物的抗寒性外, 也能增加植物的抗干旱和抗盐害的能力。

研究发现, 过量表达 *CBF1* 和 *CBF3* 的转基因拟南芥与对照相比不仅抗冻, 而且对干旱或盐害胁迫也具有一定抗性。甄伟等将 *CBF1* 转入油菜及烟草, 用电解质渗漏法分别检测其抗寒性, 结果显示转基因油菜的抗寒性较未转基因油菜有明显提高, 转基因烟草抗寒性也有一定的提高<sup>[15]</sup>。金万梅等将 *CBF1* 导入草莓中与对照相比提高了草莓对低温胁迫的抵抗力<sup>[16]</sup>。Hsieh 等将带有 *CBF1* 基因, 35S 启动子及 nos 终止子的表达载体导入西红柿, 结果发现转基因西红柿 T<sub>1</sub> 及 T<sub>2</sub> 代其抗寒性要比野生型植株高很多<sup>[17]</sup>。Ito 等将 *OsCBF* 基因转入水稻后, Pro 及可溶性糖的含量大大提高, 水稻的抗寒性、抗旱性、抗盐性都得到提高<sup>[18]</sup>。吴琰等在研究转 *CBF1* 基因地被石竹抗寒性时发现, 不同低温处理后, 其抗寒性也得到增强<sup>[19]</sup>。

## 6 结语

低温冻(寒)害是农业生产中的一种严重的自然灾害, 在很大程度上限制了农作物的地理分布, 并造成农作物产量和质量下降, 因此培育抗寒品种对于农业具有非常重要的意义。植物抗寒性属于复杂的数量性状, 用单一功能基因转化植物, 虽然转基因后代的耐寒性得到提高, 但效果并不理想。而 CBF 转录因子能特异结合 CRT/DRE 顺式作用元件, 可通过调控启动子中含有 CRT/DRE 的冷诱导和脱水基因的表达, 提高植物抗寒性。同时还可以提高植物的抗旱和耐盐能力, 增强植物对多种逆境的适应能力, 使植株抗逆性状获得综合改良。CBF 的发现为利用基因工程技术综合改良大田作物和园艺植物的抗逆性提供了一种全新而有效的技术途径。总之, 随着研究的不断深入, 它将在植物抗寒基因工程方面发挥越来越重要的作用。

### 参考文献:

[1] Stockinger E J, Gilmour S J, Thomashow M F. *Arabidopsis thaliana* CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94 (3): 1035-1040.

[2] Gilmour S J, Zarka D G, Stockinger E J, et al. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression[J]. *The Plant Journal*, 1998, 16(4): 433-442.

[3] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular Responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways[J]. *Current Opinion in plant Biology*, 2000; 217-223.

[4] Haake V, Cook D, Riechmann J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis* [J]. *Plant physiology*, 2002, 130(2): 6392-6481.

[5] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, et al. Yamaguchi-Shinozaki K I. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration and cold-inducible gene expression[J]. *J. Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290: 998-1009.

[6] Haake V, Cook D, Riedhmann J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis* [J]. *Plant physiology*, 2002, 130(2): 639-648.

[7] Jaglo-Ottosen K R, Gilmour S J, Zarka D G, et al. *Arabidopsis* CBF1 overexpression induces COR genes and enhances freezing tolerance [J]. *Science*, 1998, 280: 104-106.

[8] Jaglo KR, Kleff S, Amundsen K L, et al. Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species[J]. *Plant Physiol*, 2001, 127 (3) : 910-917.

[9] Gilmour S J, Zarka D G, Stockinger E J, et al. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression[J]. *Plant J*, 1998, 16 (4) : 433-442.

[10] Chinnusamy V, Ohta M, Kanrar S, et al. ICE1: a regulator of cold-induced transcription and freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Genes & Development*, 2003, 17 (8) : 1043-1054.

[11] 张丽丽, 李景富, 王傲雪. 转录激活因子 CBF 基因在植物抗冷分子机制中的作用[J]. *园艺学报*, 2008, 35(5) 765-771.

[12] Novillo F, Alonso J M, Ecker J R S, et al. CBF2/DREB1C is a negative regulator of CBF1/DREB1B and CBF3/DREB1A expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101 (11) : 3985-3990.

[13] Lee H, Gong X Z, Ishitani M, et al. The *Arabidopsis* HOS1 gene negatively regulates cold signal transduction and encodes a RING-finger protein that displays cold-regulated nuclear-cytoplasmic partitioning[J]. *Gene Dev*, 2001, 15 (7) : 912-924.

[14] Shinwari Z K, Nakashima K, Miura S, et al. An *Arabidopsis* gene family encoding DRE/CRT binding proteins involved in low-temperature responsive gene expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 250 (1) : 161-170.

[15] 甄伟, 陈溪, 孙思洋, 等. 冷诱导基因的转录因子 CBF1 转化油菜和烟草及抗寒鉴定[J]. *自然科学进展*, 2002(12): 1104-1109.

[16] 金万梅, 董静, 尹淑萍, 等. 冷诱导转录因子 CBF1 转化草莓及其抗寒性鉴定[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(2): 0223-0227.

[17] Hsieh T, Lee J T, Charng Y Y, et al. T1 Tomato plants ectopically expressing *Arabidopsis* CBF1 show enhanced resistance to water deficit stress[J]. *J. Plant Physiology*, 2002, 30 : 618-626.

[18] Ito Y, Katsura K, Maruyama K, et al. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice[J]. *J. Plant Cell Physiol*, 2006, 47 (1) : 141-153.

[19] 吴琰, 董静, 郭宝林, 等. 转 CBF1 基因地被石竹的抗寒性评价[J]. *中国农学通报*, 2007, 23(5): 59-62.